

Aktivitas Oligoresveratrol dari Kulit Batang *Hopea mengarawan* (Dipterocarpaceae) sebagai Penangkap Radikal Hidroksil

Activity of Oligoresveratrols from Stem Bark of Hopea mengarawan (Dipterocarpaceae) as Hydroxyl Radical Scavenger

SRI ATUN

Jurusan Pendidikan Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Yogyakarta, Karangmalang, Depok Sleman, Yogyakarta 55281

Tel. +62-274-586168 pes 215, Fax. +62-274-540713, E-mail: atun_1210@yahoo.com

Diterima 20 Juli 2005/Disetujui 7 April 2006

Four oligoresveratrols ranging from dimer to tetramer, isolated from stem bark of *Hopea mengarawan* (Dipterocarpaceae) plants were tested for their activity as hydroxyl radical scavenger. The activity of these compounds was evaluated against the 2-deoxyribose degradation induced by the hydroxyl radical generated via a Fenton-type reaction. Result showed that balanocarpol, heimiol A, vaticanol G, and vaticanol B had IC_{50} 3.83; 15.44; 2.01; and 4.71 μ M, respectively. These results suggest that oligoresveratrols from stem bark of *H. mengarawan* maybe useful as potential sources of natural anti-oxidants.

Key words: Oligoresveratrol, *Hopea mengarawan*

PENDAHULUAN

Dipterocarpaceae merupakan salah satu kelompok tumbuhan hutan tropis yang banyak terdapat di Indonesia. Dipterocarpaceae mempunyai 16 genus dan sekitar 600 spesies, sembilan genus di antaranya terdapat di Indonesia, yaitu *Anisoptera*, *Cotylelobium*, *Dipterocarpus*, *Dryobalanops*, *Hopea*, *Parashorea*, *Shorea*, *Upuna*, dan *Vatica*. Kesembilan genus tersebut tersebar mulai dari Aceh hingga Papua, dengan populasi terbesar terdapat di Kalimantan (Heyne 1987; Soerianegara & Lemmens 1994). Dari 40 spesies tumbuhan Dipterocarpaceae yang telah diselidiki, 32 spesies telah dilaporkan mengandung monomer dan oligomer resveratrol, yang dapat dibedakan atas dimer, trimer, tetramer, heksamer, heptamer, dan oktamer resveratrol. Oligoresveratrol adalah senyawa polifenol yang umumnya bersifat sebagai antioksidan. Aktivitas setiap jenis oligoresveratrol bervariasi bergantung pada struktur molekul dan kestabilannya membentuk radikal. Sejumlah oligomer resveratrol, memperlihatkan aktivitas hayati yang sangat berguna, seperti antiinflamasi, antibakteri, antifungi, antioksidan, sitotoksik, bersifat inhibitor terhadap enzim 5 α -reduktase, hepatoproteksi, dan anti-HIV (Sotheeswaran & Pasupathy 1993; Jang *et al.* 1997; Dai *et al.* 1998; Seo *et al.* 1999; Tanaka *et al.* 2000a,b,c).

Atun (2004) yang melakukan penelitian terhadap lima spesies tumbuhan meranti (Dipterocarpaceae) Indonesia, yang meliputi *Vatica umbonata*, *V. pauciflora*, *H. sangal*, *Anisoptera marginata*, dan *Dipterocarpus grandiflorius*

menemukan 14 senyawa terdiri atas 12 oligomer resveratrol, satu senyawa turunan asam galat, dan satu senyawa lignan. Beberapa senyawa yang ditemukan tersebut memiliki toksisitas yang tinggi terhadap benur udang *Artemia salina*, dan memiliki sitotoksitas yang tinggi terhadap sel murin leukimia P-388.

Berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengungkapkan potensi senyawa-senyawa yang telah ditemukan pada beberapa spesies tumbuhan meranti lainnya yang banyak terdapat di Indonesia. Salah satu uji aktivitas hayati yang dapat dilakukan adalah sebagai penangkap radikal hidroksil secara *in vitro*. Dengan mengetahui aktivitas sebagai penangkap radikal hidroksil dapat diketahui potensi senyawa-senyawa yang ditemukan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan menguji aktivitas beberapa senyawa oligoresveratrol sebagai penangkap radikal hidroksil hasil isolasi dari kulit batang tumbuhan *H. mengarawan*.

BAHAN DAN METODE

Bahan. Bahan yang digunakan meliputi contoh hasil isolasi dari kulit batang tumbuhan *H. mengarawan* yaitu balanocarpol, heimiol A, vaticanol G, dan vaticanol B dengan kemurnian tinggi, larutan deoksiribosa 3 mM (Sigma Chem.Co), asam askorbat 0.1 mM (Sigma Chem.Co), hidrogen peroksida 0.1 mM, larutan bufer fosfat pH 7.4, larutan besi(II) sulfat 0.1 mM, dan larutan asam tiobarbiturat.

Isolasi dan Identifikasi Oligoresveratrol dari Kulit Batang *H. mengarawan*. Sebanyak 5 kg serbuk kulit batang *H. mengarawan* dimaserasi dengan aseton (10 l) selama 24 jam, selanjutnya disaring, residu ditambahkan aseton dan dimaserasi lagi (2x). Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dipisahkan dengan evaporator vakum, sehingga diperoleh ekstrak kental dan ditambahkan dietil eter (200 ml) diaduk dan didekantasi, endapan dipisahkan. Selanjutnya ekstrak dipisahkan kembali dan diperoleh ekstrak yang hampir kering sebanyak 400 g. Sebagian ekstrak aseton *H. mengarawan* (40 g) difraksinasi dengan kromatografi cair vakum (silika gel GF 60 Merk 250 g; ϕ : 10 cm, t = 10 cm), dengan pengelusi berturut-turut campuran *n*-heksan-EtOAc (5:5); (4:6); (3:7); (2:8), EtOAc; Me₂O; dan MeOH. Berdasarkan hasil fraksinasi tersebut, selanjutnya dipisahkan dengan metode kolom vakum, gravitasi dan tekan dengan pelarut yang sesuai, sehingga diperoleh empat senyawa murni. Hasil identifikasi secara spektroskopi UV, IR, NMR (¹H & ¹³C) serta FAB MS disimpulkan empat senyawa tersebut adalah balanokarpol (300 mg), heimiol A (200 mg), vaticanol G (70 mg), dan vaticanol B (200 mg). Teknik isolasi dan analisis struktur ke empat senyawa tersebut dilakukan berdasarkan Atun *et al.* 2006.

Uji Aktivitas sebagai Penangkap Radikal Hidroksil.

Aktivitas sebagai penangkap radikal hidroksil dilakukan dengan metode Fenton (Halliwell *et al.* 1987). Dalam tabung reaksi dimasukkan 0.1 ml larutan deoksiribosa 3 mM, 0.01 ml larutan sampel pada berbagai konsentrasi, 0.1 ml asam askorbat 0.1 mM, 0.1 ml hidrogen peroksida 0.1 mM, dan 0.59 ml larutan bufer fosfat pH 7.4 kemudian dihomogenkan. Reaksi dimulai dengan penambahan 0.1 ml larutan besi(II) sulfat 0.1 mM. Campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37 °C. Hal yang sama juga dilakukan pada blanko yang mengandung bahan kimia yang sama tetapi tidak mengandung senyawa yang dianalisis. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 3 ml larutan asam tiobarbiturat, kemudian dipanaskan selama 15 menit pada suhu 80 °C. Warna merah dari larutan yang terbentuk diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum 532 nm. Kemampuan menangkap radikal hidroksil dihitung sebagai persentase berkurangnya serapan larutan yang mengandung senyawa bioaktif yang menangkap radikal hidroksil dibandingkan dengan larutan blanko, dengan rumus perhitungan sebagai berikut:

$$\% \text{ penangkap radikal hidroksil} = \frac{A_p - A_{tp}}{A_{tp}} \times 100\%$$

A_p = serapan tanpa contoh, A_{tp} = serapan dengan contoh

HASIL

Hasil Uji Aktivitas sebagai Penangkap Radikal Hidroksil.

Dari hasil isolasi dan identifikasi senyawa oligoresveratrol dari kulit batang *H. mengarawan* diperoleh dua dimer resveratrol, yaitu balanokarpol dan heimiol A, satu trimer resveratrol, yaitu vaticanol G dan satu tetramer resveratrol, yaitu vaticanol B. Dalam reaksi uji aktivitas ini terbentuknya

radikal hidroksil berasal dari reaksi antara besi(II) sulfat dengan hidrogen peroksida (H₂O₂). Radikal hidroksil yang terbentuk selanjutnya akan menyerang 2-deoksiribosa sehingga terbentuk malonaldialdehid. Malonaldialdehid akan bereaksi dengan asam tiobarbiturat (TBA) membentuk kompleks malonaldehid-TBA yang berwarna merah, sehingga dapat diukur serapannya pada panjang gelombang 532 nm.

Dari reaksi tersebut, apabila terdapat contoh yang dapat menangkap radikal hidroksil maka malonaldialdehid akan berkurang atau tidak terbentuk. Akibatnya, serapannya pada spektrum di daerah tampak akan berkurang. Pada penelitian ini telah dilakukan uji aktivitas sebagai penangkap radikal hidroksil dari masing-masing senyawa oligoresveratrol pada berbagai konsentrasi dengan tiga kali pengukuran (triplo). Sebagai kontrol positif digunakan vitamin C (antioksidan alami) dan *butylated hydroxy toluene* (BHT) sebagai antioksidan sintetik. Data persentase aktivitas pada variasi konsentrasi selanjutnya digunakan untuk menentukan harga IC₅₀ (konsentrasi sampel yang memiliki aktivitas 50%) dari setiap contoh menggunakan persamaan regresi linier (Tabel 1, Gambar 1).

PEMBAHASAN

Penyakit degeneratif umumnya terjadi akibat kerusakan sel, jaringan lemak, protein, sistem kekebalan, dan DNA yang disebabkan oleh berbagai faktor baik terjadi secara alami, terkena radiasi, atau oleh zat-zat kimia yang bersifat karsinogenik. Ada berbagai macam teori yang dapat menjelaskan penyebab penyakit degeneratif. Salah satu teori adalah teori reaksi radikal bebas (*free radical*). Menurut teori ini penyebab penyakit degeneratif adalah akibat timbulnya radikal hidroksil dalam mekanisme biokimia yang terjadi di dalam tubuh (Aruoma 1994).

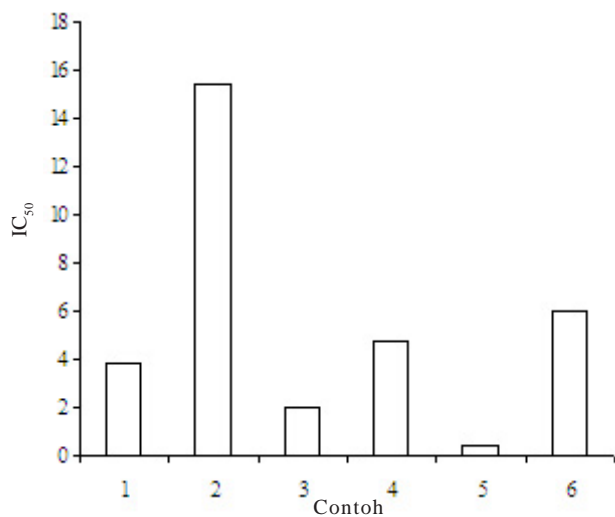
Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang mempunyai satu elektron yang tidak berpasangan. Secara teoretis radikal bebas dapat terbentuk bila terjadi pemutusan ikatan kovalen. Radikal bebas dianggap berbahaya karena menjadi sangat reaktif dalam upaya mendapatkan pasangan elektronnya. Selain itu, dapat pula terbentuk radikal bebas baru dari atom atau molekul yang elektronnya terambil untuk berpasangan dengan radikal bebas sebelumnya. Oleh karena sifatnya yang sangat reaktif dan gerakannya yang tidak beraturan, maka apabila terjadi di dalam tubuh makhluk hidup akan menimbulkan kerusakan di berbagai bagian sel (Aruoma 1994). Kerusakan tersebut dapat menyebabkan timbulnya berbagai macam penyakit degeneratif seperti katarak, kanker, aterosklerosis, dan proses penuaan (Muhilal 1991).

Perhitungan harga IC₅₀ menunjukkan bahwa balanokarpol, vaticanol G, dan vaticanol B (Gambar 2) bersifat aktif sebagai penangkap radikal hidroksil, dengan harga IC₅₀ berturut-turut 3.83, 2.01, dan 4.71 μ M, meskipun aktivitasnya lebih rendah dibanding vitamin C (IC₅₀ 0.476 μ M). Kriteria aktivitas yang digunakan sesuai dengan penelitian Kim *et al.* (2002). Sedangkan heimiol A menunjukkan aktivitas yang lebih rendah dibanding senyawa lainnya (IC₅₀ 15.44 μ M). Apabila dibandingkan dengan BHT (IC₅₀ 6.03 μ M) yang merupakan

Tabel 1. Aktivitas beberapa contoh senyawa oligoesveratrol hasil isolat dan kontrol positif sebagai penangkap radikal hidroksil

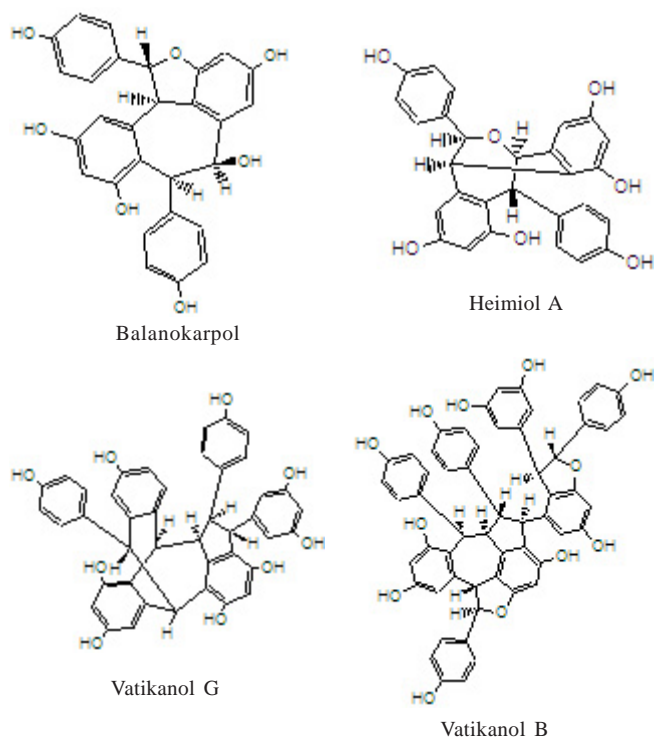
Senyawa	Konsentrasi (μM) (X)	Rataan % penangkap radikal hidroksil (Y)	Persamaan regresi	Perhitungan IC_{50} (μM)	Keterangan*
Balanokarpol	2.13	31.3	$Y = 14.69 + 9.22 X$ $r = 0.848$	3.83	Aktif
	1.06	29.8			
	0.53	24.2			
	0.27	12.1			
	0.13	14.1			
Heimiol A	2.13	19.7	$Y = 15.65 + 2.23 X$ $r = 0.709$	15.44	Kurang aktif
	1.06	18.7			
	0.53	18.2			
	0.27	17.7			
	0.13	13.1			
Vatikanol G	1.47	42.4	$Y = 29.07 + 10.41 X$ $r = 0.812$	2.01	Aktif
	0.74	38.8			
	0.37	37.3			
	0.18	32.8			
	0.09	23.7			
Vatikanol B	1.10	18.68	$Y = 8.22 + 8.87 X$ $r = 0.951$	4.71	Aktif
	0.55	11.62			
	0.28	10.10			
	0.14	11.11			
	0.07	8.58			
Vitamin C	2.841	3.19	$Y = 58.9612 - 18.82 X$ $r = -0.984$	0.47	Sangat aktif
	1.420	37.76			
	0.710	45.21			
	0.355	49.46			
BHT	4.545	51.59	$Y = 62.16 - 2.02 X$ $r = -0.8877$	6.03	Kurang aktif
	2.272	60.64			
	1.136	60.10			
	0.568	60.10			
	0.284	60.64			

* $\text{IC}_{50} < 1 \mu\text{M}$: sangat aktif, 1-5 μM : aktif, lebih dari 5 μM : kurang aktif (Kim *et al.* 2002)



Gambar 1. Aktivitas penangkap radikal hidroksil (IC_{50}) beberapa contoh senyawa. 1. Balanokarpol, 2. Heimiol A, 3. Vatikanol G, 4. Vatikanol B, 5. Vitamin C, 6. BHT.

antioksidan sintetik, maka senyawa resveratrol kecuali heimiol A tersebut menunjukkan aktivitas yang lebih tinggi. Ditinjau dari harga IC_{50} senyawa oligoesveratrol tersebut menunjukkan bahwa vatikanol G memiliki harga IC_{50} yang lebih rendah dari senyawa yang lainnya, artinya aktivitasnya lebih tinggi, disusul balanokarpol, vatikanol B, dan terakhir heimiol A.



Gambar 2. Struktur molekul beberapa senyawa oligoesveratrol hasil isolasi dari kulit batang *H. mengarawan* (Atun *et al.* 2006).

Dari hasil penelitian ini dapat diketahui aktivitas beberapa senyawa oligoresveratrol hasil isolasi dari kulit batang *H. mengarawan* sebagai penangkap radikal hidroksil. Keempat jenis resveratrol tersebut menunjukkan bahwa aktivitas sebagai penangkap radikal disamping ditentukan oleh adanya gugus fenol bebas juga dipengaruhi oleh bentuk struktur molekul dari senyawa tersebut. Secara teoretis makin banyak jumlah gugus fenol maka makin tinggi kemampuannya sebagai penangkap radikal hidroksil. Namun penelitian menunjukkan bahwa vatanol G dan balanokarpol yang memiliki gugus fenol lebih sedikit dibanding vatanol B memiliki aktivitas yang lebih tinggi. Dengan demikian kestabilan struktur molekul masing-masing senyawa juga menentukan aktivitasnya sebagai penangkap radikal hidroksil. Gugus fenol dapat menangkap hidroksil dengan cara melepaskan radikal hidrogen yang akan berkondensasi dengan radikal hidroksil, membentuk molekul air, sedangkan radikal fenol akan terstabilkan oleh resonansi (Hart 1987). Dengan demikian, senyawa resveratrol tersebut berpotensi untuk dikembangkan sebagai antioksidan, yang dapat mencegah atau memperlambat terjadinya reaksi oksidasi radikal bebas. Peran antioksidan dalam tubuh adalah mengurangi radikal bebas, seperti spesies oksigen reaktif yang dapat terbentuk dalam proses metabolisme di dalam organisme. Antioksidan juga dapat berfungsi melindungi lipoprotein densitas rendah (*low density lipoprotein*) dari reaksi oksidasi sehingga dapat mencegah terjadinya arteriosklerosis.

Penelitian ini perlu dikembangkan lebih lanjut sehingga dapat dihasilkan antioksidan alami yang aman, yang dapat mengurangi berbagai penyakit degeneratif di Indonesia. Di samping itu, meranti (Dipterocarpaceae) merupakan salah satu kekayaan hutan tropis yang belum dimanfaatkan secara optimum. Sementara ini meranti baru dimanfaatkan sebagai bahan bangunan dan bahan baku industri kayu lapis, sedangkan kulit batangnya merupakan limbah yang belum dimanfaatkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aruoma OI. 1994. Free radicals and antioxidant strategies in sports. *J Nutr Biochem* 5:370-381.
- Atun S. 2004. Fitokimia beberapa spesies Dipterocarpaceae Indonesia dari genus *Vatica*, *Anisoptera*, *Hopea*, dan *Dipterocarpus* [Disertasi]. Bandung: Fakultas Pascasarjana, Institut Teknologi Bandung.
- Atun S, Ahmad SA, Niwa M, Arianingrum R, Aznam N. 2006. Oligostilbenoids from *Hopea mengarawan*. *Biochem Syst Ecol* (In press).
- Dai JR, Hallock YF, Cardellina JH, Boyd MR. 1998. HIV-Inhibitory and cytotoxic oligostilbenoids isolated from the leaves of *Hopea malibato*. *J Nat Prod* 61:351-353.
- Halliwel B, Gutteridge JMC, Aruoma OI. 1987. The deoxyribose method: a simple test tube assay for determination of rate constants for reaction of hydroxyl radicals. *Anal Biochem* 165:215-219.
- Hart HJ. 1987. *Organic Chemistry, A short course*. Ed ke-7. USA: Houghton Mifflin Com.
- Heyne K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia* Jilid III. Jakarta: Badan Litbang Kehutanan.
- Jang M *et al.* 1997. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from *Grapes*. *Science* 275:218-220.
- Kim HJ *et al.* 2002. Antioxidative activity of resveratrol and its derivatives isolated from seed of *Paeonia lactiflora*. *Biosci Biotechnol Biochem* 66:1990-1993.
- Muhilal. 1991. Teori radikal bebas dalam gizi dan kedokteran. *Cermin Dunia Kedokteran* 73:9-11.
- Seo EK *et al.* 1999. Resveratrol tetramer from *Vatica diospyroides*. *J Org Chem* 64:6976-6983.
- Soerianegara I, Lemmens RHMJ. 1994. *Plant Resources of South East Asia, 5 (1) Timber Trees :Major Commercial Timbers*. Bogor: Prosea
- Sotheeswaran S, Pasupathy V. 1993. Distribution of resveratrol oligomers in plants. *Phytochemistry* 32:1083-1092.
- Tanaka T *et al.* 2000a. Stilbenoids in the stem bark of *Hopea parviflora*. *Phytochemistry* 53:1015-1019.
- Tanaka T *et al.* 2000b. Vatanol D, a novel resveratrol hexamer isolated from *Vatica rassak*. *Tetrahedron Lett* 41:7929-7932.
- Tanaka T, Ito T, Nakaya K, Linuma M, Riswan S. 2000c. Oligostilbenoids in the stem bark of *Vatica rassak*. *Phytochemistry* 54:63-69.